

DOCKET NO. TOS-158-USA-PCT

**IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE**

In re Application of:

**K. Miyazawa, et al.**

Serial No.: **Corresponding to PCT/JP03/04430**  
**Filed April 8, 2003**

Filed: **Concurrently herewith**

For: **Polysaccharide Containing Phosphorylcholine Group And Process For  
Producing The Same**

**CLAIM FOR PRIORITY**

Commissioner for Patents  
P.O. Box 1450  
Alexandria, VA 22313-1450

Sir:

The benefit of the filing date of the following prior foreign application filed in Japan is hereby requested for the above identified application and the priority provided in 35 U.S.C. 365 is hereby claimed:

Japanese patent application No. 2002-106356 filed April 9, 2002

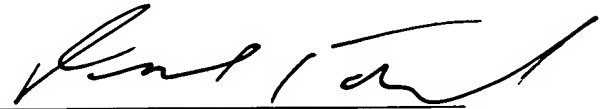
In support of this claim, a certified copy of said original foreign application was filed with the International Bureau on June 5, 2003, as evidenced by form PCT/IB/304, which is attached.

It is requested that the file of this application be marked to indicate that the requirements of 35 U.S.C. 365 have been fulfilled and that the Patent and Trademark Office kindly acknowledge receipt of this document.

DOCKET NO. TOS-158-USA-PCT

Respectfully submitted,

TOWNSEND & BANTA



Donald E. Townsend  
Reg. No. 22,069



Donald E. Townsend, Jr.  
Reg. No. 43,198

Customer No. 27955

TOWNSEND & BANTA  
Suite 900, South Building  
601 Pennsylvania Ave., N.W.  
Washington, D.C. 20004  
(202) 220-3124

Date: September 7, 2004

10/506771  
Rec'd 07 SEP 2004  
CT/JP03/04430

日 本 国 特 許 庁  
JAPAN PATENT OFFICE

08.04.03

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office

出 願 年 月 日  
Date of Application:

2002年 4月 9日

REC'D 05 JUN 2003

出 願 番 号  
Application Number:

特願2002-106356

[ ST.10/C ]:

[ JP 2002-106356 ]

出 願 人  
Applicant(s):

株式会社資生堂

WIPO PCT

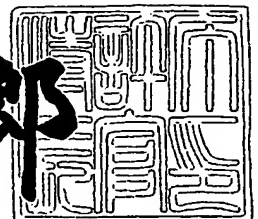
PRIORITY  
DOCUMENT

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

2003年 5月13日

特 許 庁 長 官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

太田信一郎



BEST AVAILABLE COPY 出証番号 出証特2003-3035869

【書類名】 特許願

【整理番号】 SD020010

【提出日】 平成14年 4月 9日

【あて先】 特許庁長官殿

【国際特許分類】 C08F 30/02

【発明者】

【住所又は居所】 神奈川県横浜市都筑区早渕 2 - 2 - 1 株式会社資生堂  
リサーチセンター（新横浜）内

【氏名】 宮沢 和之

【発明者】

【住所又は居所】 神奈川県横浜市都筑区早渕 2 - 2 - 1 株式会社資生堂  
リサーチセンター（新横浜）内

【氏名】 梁木 利男

【発明者】

【住所又は居所】 カナダ国 ケベック ウエストモント （# 2） アヴ  
ェニュー・オリヴィエ 3 5 6

【氏名】 ウィニック フランソワズ

【特許出願人】

【識別番号】 000001959

【氏名又は名称】 株式会社資生堂

【代理人】

【識別番号】 100094570

【弁理士】

【氏名又は名称】 ▲高▼野 俊彦

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 019138

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 0105015

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

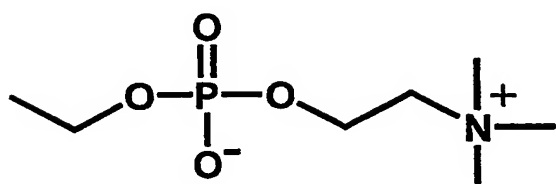
【発明の名称】 ホスホリルコリン基含有多糖類及びその製造方法

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 下記一般式（1）で示されるホスホリルコリン基を有する多糖類。

【化 1】

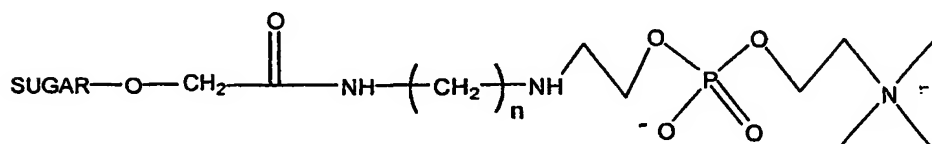
（1）



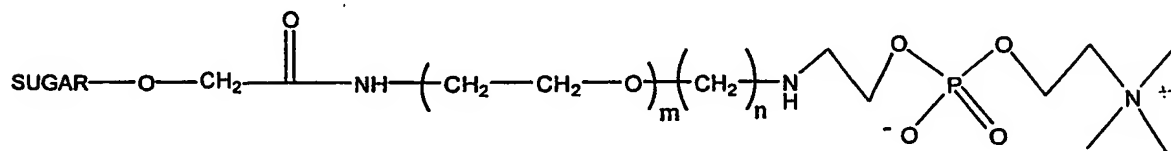
【請求項 2】 下記一般式（2）～（10）で示される、ホスホリルコリン基を有する多糖類。

【化 2】

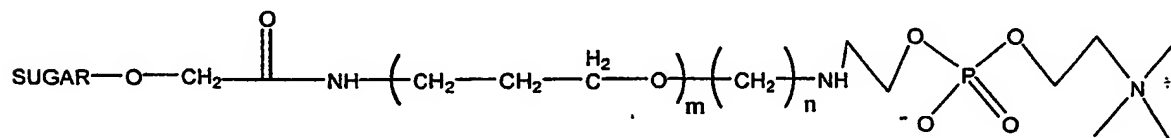
（2）



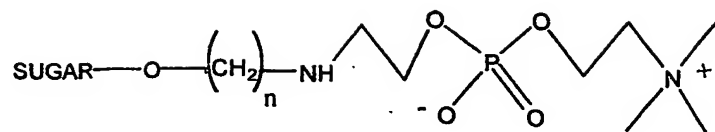
（3）



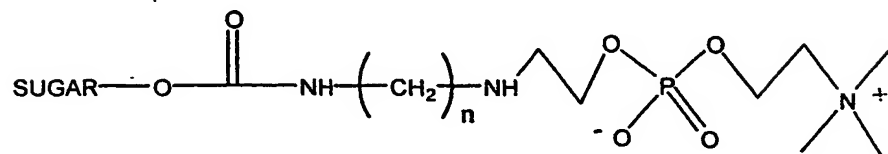
（4）



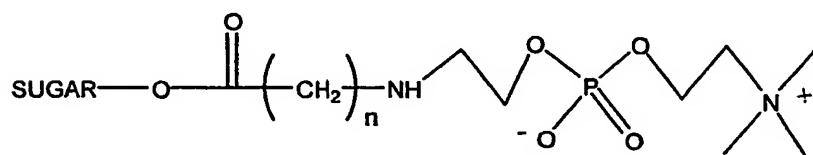
(5)



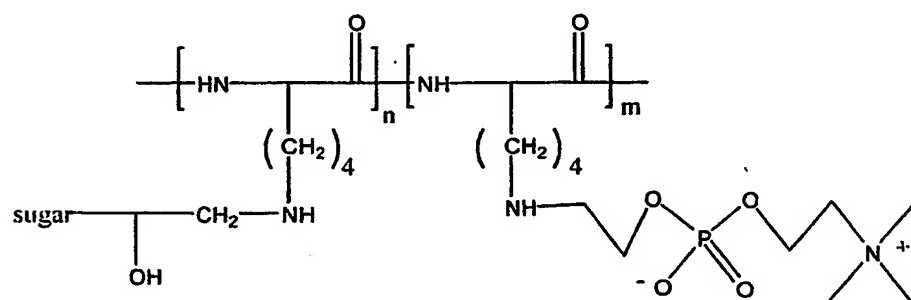
(6)



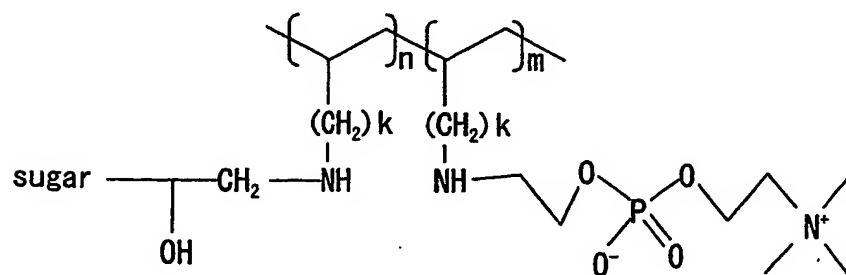
(7)



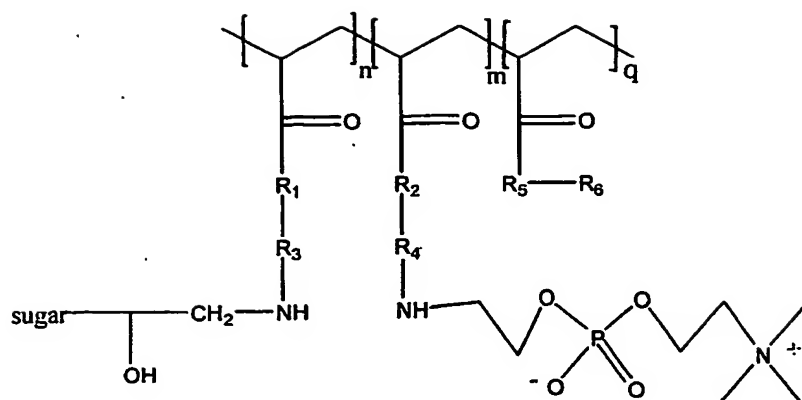
(8)



(9)



(10)



但し、一般式(2)～(7)において、 $n$ は1～22の整数、 $m$ は1～20の整数、SUGARは多糖類を表わす。

一般式(8)～(10)において、 $R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_5$ は、O、NH又は3級アミンを表わす。

$R_3$ 、 $R_4$ は、炭素原子数1～22の直鎖または分岐アルキレン、又は、繰り返し単位1～20のエチレンオキシドを表わす。

$R_6$ は、芳香族を含む炭化水素、又は、炭素原子数1～22のパーフルオロアルキレン基を表わす。

$k$ は0～6の整数、 $n$ 、 $m$ 、 $q$ は正の整数、sugarは多糖類を表わす。

【請求項3】 グリセロホスホリルコリンの酸化的開裂反応により得られたアルデヒド体含有化合物を、アミノ基を含有する多糖類に付加することを特徴とするホスホリルコリン基を有する多糖類の製造方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明はホスホリルコリン基を有する多糖類及び製造方法に関する。

本発明のホスホリルコリン基含有多糖類は、生体適合性、保湿性に優れ、医用高分子材料として有用である。具体的には、例えば人口臓器、生体膜、医療用具のコーティング剤、ドラッグデリバリー、化粧品配合成分として利用される。

【0002】

【従来の技術】



ホスホリルコリン基を有する高分子は生体適合性材料として開発されている。ホスホリルコリン基を有する重合体の合成法としては、主に水酸基を有するアクリル系モノマーと2-クロロ-1,3,2-ジオキサホスホラン-2-オキシドを反応させ、更にトリメチルアミンにより4級アンモニウムとすることによりホスホリルコリン構造を有するモノマーを合成し、これを重合する方法が採られてきた。

#### 【0003】

##### 【発明が解決しようとする課題】

しかしながら、上記の方法ではモノマーの溶解性の問題から疎水性基を導入する場合、重合溶媒としてメタノール、エタノール、クロロホルム等、連鎖移動触媒として知られる有機溶媒を用いる必要があるため、高分子量のポリマーの製造が難しい。また、モノマーの合成反応を厳密な無水条件下にて行う必要があり、手法が煩雑である。

#### 【0004】

また、ホスホリルコリンを側鎖に有する単量体を重合する従来の製造方法ではホスホリルコリン基の立体障害から、重合収率が低下或いは希望する重合体を得られないという問題がある。

#### 【0005】

本発明者らは、上記の観点から、ホスホリルコリン基含有重合体の製造方法について鋭意研究した結果、ホスホリルコリン基を含有する化合物と、この化合物と反応する官能基を有する多糖類を反応させると、重合体の側鎖における高分子反応により簡便かつ高い汎用性をもってホスホリルコリン構造を有する多糖類が得られることを見出し、本発明を完成するに至った。

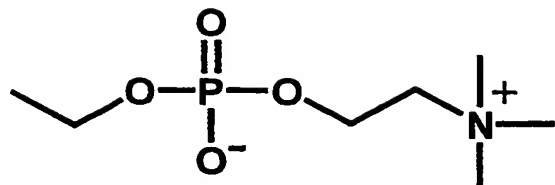
#### 【0006】

##### 【課題を解決するための手段】

すなわち、本発明は、下記一般式(1)で示されるホスホリルコリン基を有する多糖類を提供するものである。

【化 3】

(1)

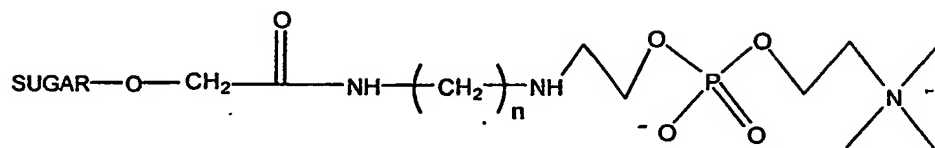


【0007】

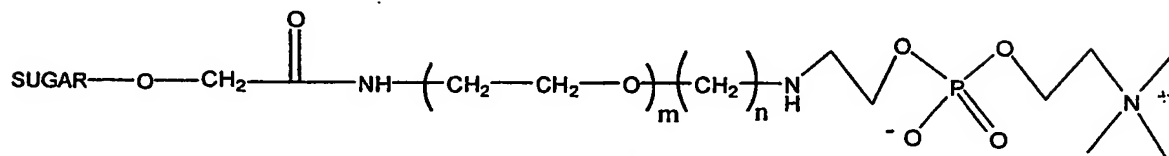
また、本発明は、下記一般式(2)～(10)で示される、ホスホリルコリン基を有する多糖類を提供するものである。

【化 4】

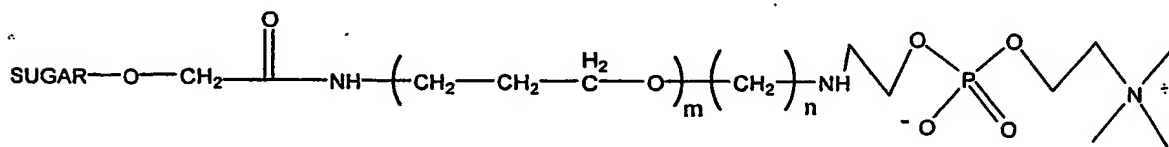
(2)



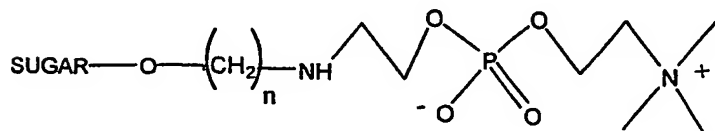
(3)



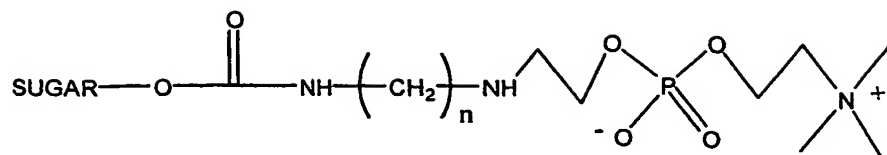
(4)



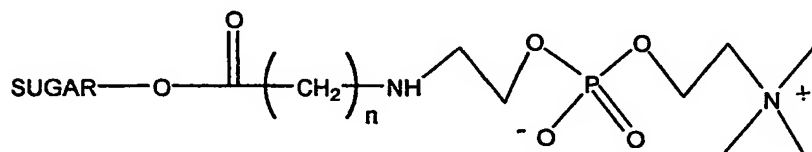
(5)



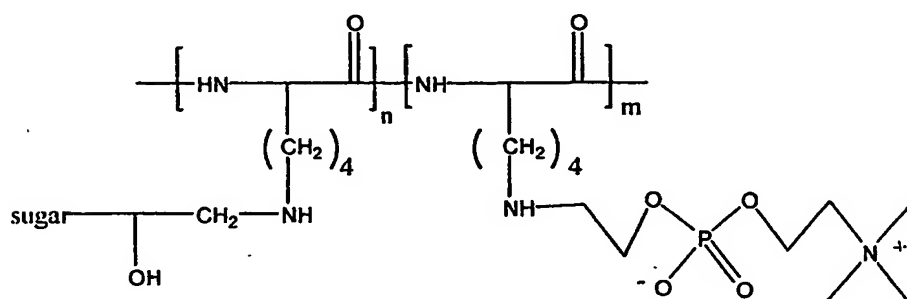
(6)



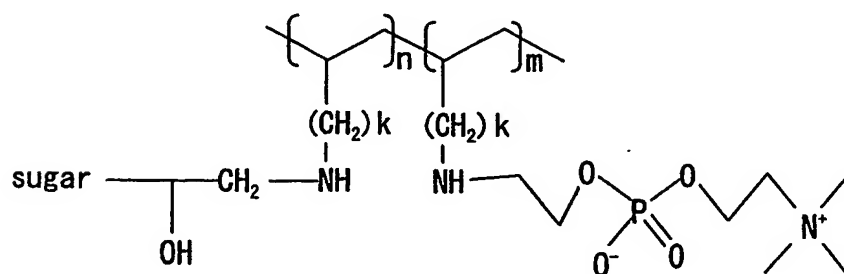
(7)



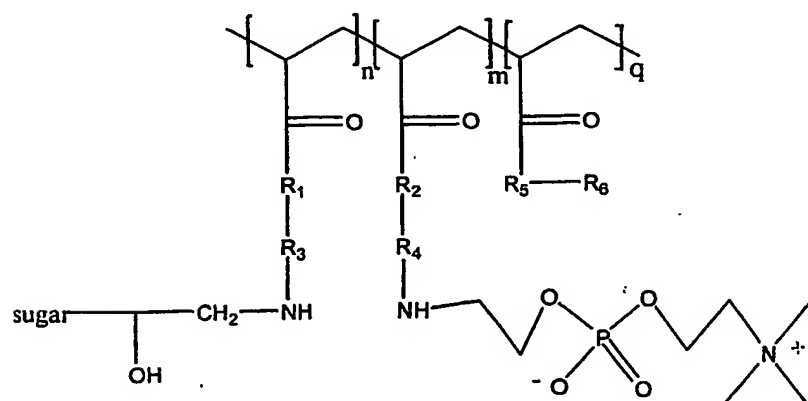
(8)



(9)



(10)



但し、一般式 (2) ~ (7) において、 $n$  は 1 ~ 22 の整数、 $m$  は 1 ~ 20 の整数、SUGAR は多糖類を表わす。

一般式 (8) ~ (10) において、 $R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_5$  は、O、NH 又は 3 級アミンを表わす。

$R_3$ 、 $R_4$  は、炭素原子数 1 ~ 22 の直鎖または分岐アルキレン、又は、繰り返し単位 1 ~ 20 のエチレンオキシドを表わす。

$R_6$  は、芳香族を含む炭化水素、又は、炭素原子数 1 ~ 22 のパーフルオロアルキレン基を表わす。

$k$  は 0 ~ 6 の整数、 $n$ 、 $m$ 、 $q$  は正の整数、sugar は多糖類を表わす。

【0008】

さらに、本発明は、グリセロホスホリルコリンの酸化的開裂反応により得られたアルデヒド体含有化合物を、アミノ基を含有する多糖類に付加することを特徴とするホスホリルコリン基を有する多糖類の製造方法を提供するものである。

【0009】

【発明の実施の形態】

以下、本発明について詳述する。

【0010】

本発明のホスホリルコリン基を有する多糖類の製造方法は以下の通りである。

①：アミノ基を有する多糖類に対し、グリセロホスホリルコリンの酸化的解裂反応により得られたアルデヒド体あるいはハイドレート体との還元的アミノ化反応により、ホスホリルコリン基が付加した多糖類を得る。

【0011】

従来、ホスホリルコリン基を主鎖に付加した多糖類は報告されていない。多糖類に対しては、グラフト重合により主鎖から離れた側鎖に間接的に導入する方法が知られている (Journal of Biomedical Materials Research, Vol.29, 181-188 (1995)) のみであるが、製造法が煩雑であるという欠点がある。

【0012】

①の反応による本発明の製造方法は導入収率が高く、導入率のコントロールも容易であるという大きな利点がある。

例えば、目的に応じてホスホリルコリンの導入率を制御し、ポリマーの親水性を変えたり、必要とされる生体適合性に合わせるような設計が可能である。また、ホスホリルコリン基に影響されることなく、疎水基等により糖鎖に必要な機能を持たせた上で、その後に任意の量のホスホリルコリン基を付加させ、目的とする機能性高分子材料を容易に得ることが出来る。またポリマーの形態として、多糖類の主鎖にホスホリルコリンを導入したもの及び多糖類に導入したポリマーの主鎖にホスホリルコリンを導入したものを合成可能であり、用途に応じて使い分けることができる。

#### 【0013】

本発明の①の製造方法において、グリセロホスホリルコリンの酸化的解裂反応により得られるアルデヒド体を含む化合物は、公知のグリセロホスホリルコリン基を公知の方法により酸化的解裂を行わせるもので、極めて簡単なステップである。

この反応は、1, 2-ジオールを過ヨウ素酸、或いは過ヨウ素酸塩を用いて酸化することにより結合を開裂させ、2つのアルデヒド体を得るものであり、本法の場合、ホスホリルコリンアルデヒド体とホルムアルデヒドを生成する。反応は通常水中または水を含む有機溶媒中で行われる。反応温度は0度から室温である。アルデヒド体は水中で平衡反応を経てハイドレートとなることもあるが、続くアミンとの反応には影響しない。

#### 【0014】

アミノ基を有する多糖類は特に限定されない。多糖類の側鎖に、グリセロホスホリルコリンの酸化的解裂反応により得られるアルデヒド体が反応できるアミノ基があればよい。

公知の多糖類を使用できる。公知の多糖類に公知の方法によりアミノ基を導入して、目的とする用途に合った多糖類を設計できる。

多糖類としては、例えば、デキストラン、セルロース、ヒアルロン酸、プルラン、グルコマンナン、コンドロイチン硫酸、アガロース、ペクチン、キチン、キトサン、アラビアゴム、カラギーナン、ジュラン、グアーガム、アルギン酸、キサンタンガム、アミロース、レオザンなどが挙げられる。

## 【0015】

多糖類がアミノ基を有するためには、例えば、カルボキシメチル化反応によりカルボン酸を導入し、続くジアミンとのアミド化反応を行う。またキトサンのようにアミノ基を有する多糖はそのままホスホリルコリン導入反応に供することが可能である。アミノ基の含有量により、最終目的物のホスホリルコリン基含有量を設計できる。

また、還元末端を有する通常多糖類と、ポリリジン或いはポリエチレンジアミンといったアミノ基を有するポリマーを還元的アミノ化によりカップリングさせ、アミノ基含有多糖類を得ることもできる。

## 【0016】

グリセロホスホリルコリンの酸化的解裂反応により得られるアルデヒド体(若しくはハイドレート体重合体)を重合体のアミノ基に結合させる還元的アミノ化反応は、両者を溶媒中にて攪拌することにより容易に行うことが出来る。

この反応は両者を水或いはアルコール中に溶解し(第三成分の有機溶媒を混合しても良い)、イミンを形成させた後、これを還元剤により還元して2級アミンを得るものである。

還元剤としてはシアノホウ素酸ナトリウム等マイルドな還元剤が好ましいが、ホスホリルコリンが安定な限り、他の還元剤を用いることも可能である。反応は通常0度から室温で行われるが、場合により加熱することもある。

## 【0017】

上記の製造方法により、親水部のホスホリルコリン基を任意の量で含有する多糖類が簡単に得られる。

生体適合機能を有するものとして、さらにホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルセリン、ホスファチジイルイノシトール、ジホスファチジルグリセロールといった生体膜構成成分の構造を含有する重合体も設計出来る。

多糖類の親水部として、カルボン酸基、水酸基、1級～3級アミノ基、スルホン酸基、リン酸基、ポリオキシエチレン基、アンモニウム基、アミド、カルボキシペタイン、糖類等を含有してもよく、これらの種類及び含有量で、その機能を設計できる。

また、多糖類の疎水部として、炭素原子数 1 ～ 2 2 の直鎖状または分岐アルキル、コレステロール等の環状アルキル、オレイル等不飽和結合を含むアルキル基、ベンゼン環、ナフタレン環、ピレンをはじめとする炭化水素系芳香族、ピリジン環、イミダゾール、チアゾール、インドール等のヘテロ系芳香族、パーフルオロアルキル、ポリアルキルシロキサン等の疎水基を用途に応じて導入し、設計できる。

疎水基の結合形態は、エステル、エーテル、アミド、ウレタン、尿素結合等により直接主鎖と結合されていても良いし、スペーサーを介して主鎖と結合されていても良い。スペーサーの種類としては、親水性のポリエチレンオキサイド、疎水性のポリプロピレンオキサイド、直鎖状アルキル（炭素原子数 2 ～ 2 2）等が挙げられる。

#### 【 0 0 1 8 】

上記の製造方法により、一般式 (1) ～ (1 0) で表わされる本発明の多糖類を容易に製造することが出来る。

一般式 (2) ～ (1 0) で表わされる多糖類は多糖類とホスホリルコリンが 2 級アミンを介して結合していることを特徴としている。ホスホリルコリンの結合部位は高分子主鎖に 2 級アミンを介して直接結合するものである。

本発明の製造方法により、多糖類とホスホリルコリンとを 2 級アミンを介して結合させることも可能であるし、糖鎖末端にブロック的にアクリル系ポリマーなどを結合させて結合させたポリマー中にて 2 級アミンを介してホスホリルコリンを結合させることも可能である。

本発明のホスホリルコリン基を有する多糖類は親水性及び保湿性に優れた多糖類高分子原料である。

#### 【 0 0 1 9 】

一般式 (2) ～ (1 0) において、多糖類を表わす「sugar」は、炭素原子数 1 ～ 2 2 の直鎖又は分岐アルキル基、パーフルオロアルキル基、芳香族基、ヘテロ芳香族基を含んでも良い。

一般式 (8) ～ (1 0) の多糖類は、重合体の主鎖にホスホリルコリン基と多糖類が付加した重合体である。

これは、アミノ基を介して、多糖類とホスホリルコリン基が付加した重合体であり、 $m$ 、 $n$ 、 $q$ で括ったカッコ部分の二種或いは三種の繰り返し単位を含有する重合体を意味し、通常、多糖類とホスホリルコリン基が付加した繰り返し単位はランダムに重合している。 $m$ 、 $n$ 、 $q$ は正の整数により、多糖類とホスホリルコリン基がそれぞれ付加した繰り返し単位の重合体中の組成を表わすことが出来る。

アミノ基を有する重合体に多糖類とホスホリルコリン基とを付加させる高分子反応により製造するため、重合体中には多糖類若しくはホスホリルコリン基が付加せずにアミノ基が残存している繰り返し単位があってもよい。

#### 【0020】

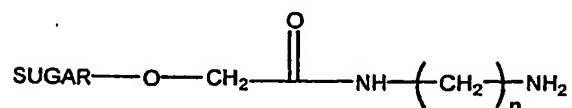
一般式(2)～(7)における多糖類は特に限定されるものではなく、水酸基を有し、反応溶媒に可溶であればいかなる多糖類も使用できる。

一般式(8)～(10)における多糖類は還元末端を有し、反応溶媒に可溶であればいかなる多糖類も使用できる。

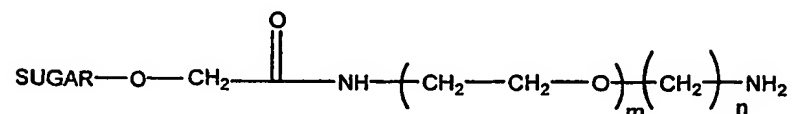
一般式(2)～(10)のホスホリルコリン基を有する多糖類は、下記の一般式(11)～(19)で表わされるアミノ基を含有する多糖類から、本発明の製造方法により容易に製造できる。また、一般式以外にも元来アミノ基を有する糖(キトサン等)も使用できる。

#### 【化5】

(11)

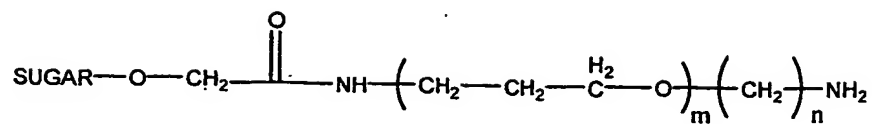


(12)

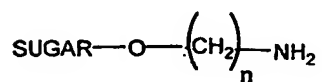




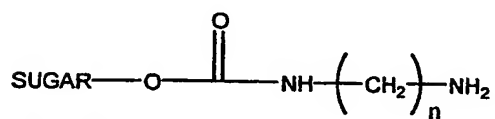
(13)



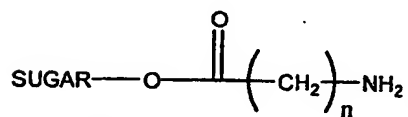
(14)



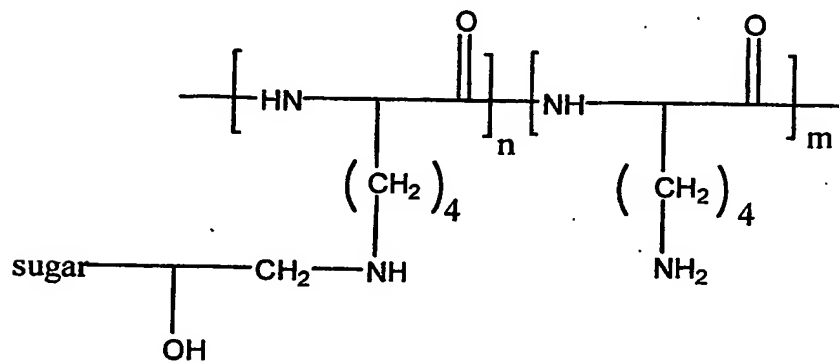
(15)



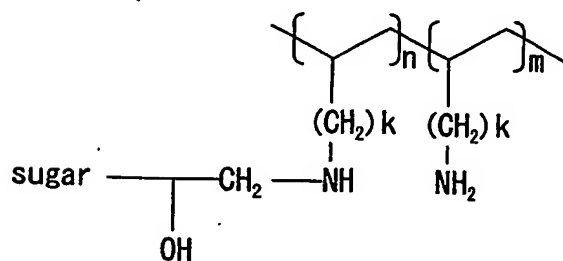
(16)



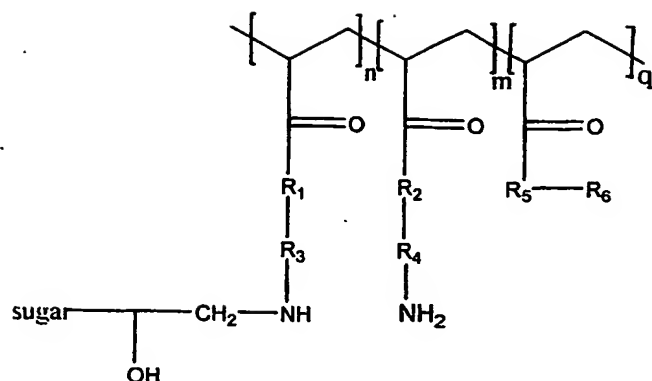
(17)



(18)



(19)



但し、一般式(11)～(16)において、 $n$ は1～22の整数、 $m$ は1～20の整数、SUGARは多糖類を表わす。

一般式(17)～(19)において、 $R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_5$ は、O、NH又は3級アミンを表わす。

$R_3$ 、 $R_4$ は、炭素原子数1～22の直鎖または分岐アルキレン、又は、繰り返し単位1～20のエチレンオキシドを表わす。

$R_6$ は、芳香族を含む炭化水素、又は、炭素原子数1～22のパーフルオロアルキレン基を表わす。

$k$ は0～6の整数、 $n$ 、 $m$ 、 $q$ は正の整数、sugarは多糖類を表わす。

【0021】

図1に、ホスホリルコリン基含有する一官能のアルデヒド体を調製するスキーム、図2に一般式(2)の多糖類の製造スキームを示す。

本発明の製造方法により、一官能のホスホリルコリンアルデヒド体から目的の本発明のホスホリルコリン基含有多糖類が容易に得られることを示している。

一般式(3)～(11)の多糖類も全く同様にして得られる。

【0022】

【実施例】

以下に具体的な合成例を挙げる。本発明は下記の合成例に限定されない。

本発明の多糖類中の組成はNMRにより求めることが出来る。

【0023】

合成例1 ホスホリルコリン基を含有するアルデヒド体

L- $\alpha$ -グリセロホスホリルコリン (450 mg) を蒸留水 15 ml に溶解し、氷水浴中で冷却する。過ヨウ素酸ナトリウム (750 mg) を添加し、2 時間攪拌する。更にエチレングリコール (150 mg) を添加して 1 晩攪拌する。反応液を減圧濃縮、減圧乾燥し、メタノールにより目的物を抽出する。

構造式及び NMR スペクトルを図 3 に示す。

【0024】

#### 合成例 2 カルボキシメチルデキストランの合成

デキストラン (5 g)、クロロ酢酸 (10.28 g) を 6 N 水酸化ナトリウム溶液に溶解し、60℃ で 1 時間過熱攪拌する。室温に冷却した後メタノール中に再沈殿し、目的物を得る。(収量 6.2 g)

構造式を図 4 に示す。

【0025】

#### 合成例 3 アミノデキストランの合成

合成例 2 のカルボキシデキストラン 1 g とエチレンジアミン (10 ml) を蒸留水 10 ml に溶解し、pH 5 に調整する。1 {3- (ジメチルアミノ) プロピル} 3-エチルカルボジイミド塩酸塩 1.5 g を徐添加する。室温で 1 晩攪拌した後、反応液を水中で透析し、凍結乾燥により目的物 1.25 g を得る。

構造式及び NMR スペクトルを図 5 に示す。

【0026】

#### 合成例 4 アミノセルロースの合成

カルボキシメチルセルロース 1 g とエチレンジアミン (10 ml) を蒸留水 10 ml に溶解し、pH 5 に調整する。1 {3- (ジメチルアミノ) プロピル} 3-エチルカルボジイミド塩酸塩 1.5 g を徐添加する。室温で 1 晩攪拌した後、反応液を水中で透析し、凍結乾燥により目的物 1.05 g を得る。

構造式及び NMR スペクトルを図 6 に示す。

、【0027】

#### 合成例 5 アミノヒアルロン酸の合成

ヒアルロン酸 1 g とエチレンジアミン (10 ml) を蒸留水 10 ml に溶解し、pH 5 に調整する。1 {3- (ジメチルアミノ) プロピル} 3-エチルカルボ

ジイミド塩酸塩 1.5 g を徐添加する。室温で 1 晩攪拌した後、反応液を水中で透析し、凍結乾燥により目的物 1.2 g を得る。

構造式を図 7 に示す。

【0028】

#### 合成例 6 カルボキシメチルプルランの合成

プルラン (5 g)、クロロ酢酸 (10.28 g) を 6 N 水酸化ナトリウム溶液に溶解し、60℃で 1 時間過熱攪拌する。室温に冷却した後メタノール中に再沈殿し、目的物を得る。(収量 5.1 g)

構造式を図 8 に示す。

【0029】

#### 合成例 7 アミノプルランの合成

合成例 6 のカルボキシプルラン 1 g とエチレンジアミン (10 ml) を蒸留水 10 ml に溶解し、pH 5 に調整する。1 {3-(ジメチルアミノ)プロピル} 3-エチルカルボジイミド塩酸塩 1.5 g を徐添加する。室温で 1 晩攪拌した後、反応液を水中で透析し、凍結乾燥により目的物 1.15 g を得る。

構造式を図 9 に示す。

【0030】

#### 合成例 8 ホスホリルコリンデキストランの合成

合成例 1 のホスホリルコリンアルデヒド 1 g を合成例 3 のアミノデキストリン (1 g) 水溶液 (15 ml) に添加し、5 時間室温で攪拌する。水素化シアノホウ素酸ナトリウム 500 mg を添加し、一晩攪拌する。透析、凍結乾燥により精製し、目的物 1.1 g を得る。

構造式及び NMR スペクトルを図 10 に示す。

【0031】

#### 合成例 9 ホスホリルコリンセルロースの合成

合成例 1 のホスホリルコリンアルデヒド 1 g を合成例 4 のアミノセルロース (1 g) 水溶液 (15 ml) に添加し、5 時間室温で攪拌する。水素化シアノホウ素酸ナトリウム 500 mg を添加し、一晩攪拌する。透析、凍結乾燥により精製し、目的物 1.05 g を得る。

構造式を図11に示す。

### 【0032】

合成例10 ホスホリルコリンヒアルロン酸の合成

合成例1のホスホリルコリンアルデヒド1gを合成例6のアミノヒアルロン酸(1g)水溶液(15ml)に添加し、5時間室温で攪拌する。水素化シアノホウ素酸ナトリウム500mgを添加し、一晩攪拌する。透析、凍結乾燥により精製し、目的物1.2gを得る。

構造式及びNMRスペクトルを図12に示す。

### 【0033】

合成例11 ホスホリルコリンプルランの合成

合成例1のホスホリルコリンアルデヒド1gを合成例8のアミノプルラン(1g)水溶液(15ml)に添加し、5時間室温で攪拌する。水素化シアノホウ素酸ナトリウム500mgを添加し、一晩攪拌する。透析、凍結乾燥により精製し、目的物0.99gを得る。

構造式を図13に示す。

### 【0034】

合成例12 疎水化ホスホリルコリンデキストランの合成

合成例3のアミノデキストリン(1g)水溶液(15ml)にラウリン酸(0.02g)のDMF(15ml)溶液を添加し、1{3-(ジメチルアミノ)プロピル}3-エチルカルボジイミド塩酸塩1.5gを徐添加する。室温で1晩攪拌した後、反応液を水中で透析し、この水溶液に合成例1のホスホリルコリンアルデヒド1gを添加、5時間室温で攪拌する。水素化シアノホウ素酸ナトリウム500mgを添加し、一晩攪拌する。透析、凍結乾燥により精製し、目的物1.1gを得る。

構造式を図14に示す。

### 【0035】

合成例13 疎水化ホスホリルコリンセルロースの合成

合成例4のアミノデキストリン(1g)水溶液(15ml)にステアリン酸(0.01g)のDMF(15ml)溶液を添加し、1{3-(ジメチルアミノ)}

プロピル} 3-エチルカルボジイミド塩酸塩 1.5 g を徐添加する。室温で1晩攪拌した後、反応液を水中で透析し、この水溶液に合成例1のホスホリルコリンアルデヒド 1 g を添加、5時間室温で攪拌する。水素化シアノホウ素酸ナトリウム 500 mg を添加し、一晩攪拌する。透析、凍結乾燥により精製し、目的物 0.89 g を得る。

構造式を図15に示す。

#### 【0036】

#### 合成例14 疎水化ホスホリルコリンヒアルロン酸の合成

合成例5のアミノヒアルロン酸 (1 g) 水溶液 (15 ml) にパーフルオロオクタン酸 (0.2 g) のDMF (15 ml) 溶液を添加し、1 {3-(ジメチルアミノ) プロピル} 3-エチルカルボジイミド塩酸塩 1.5 g を徐添加する。室温で1晩攪拌した後、反応液を水中で透析し、この水溶液に合成例1のホスホリルコリンアルデヒド 1 g を添加、5時間室温で攪拌する。水素化シアノホウ素酸ナトリウム 500 mg を添加し、一晩攪拌する。透析、凍結乾燥により精製し、目的物 1.2 g を得る。

構造式を図16に示す。

#### 【0037】

#### 合成例15 疎水化ホスホリルコリンプルランの合成

合成例7のアミノプルラン (1 g) 水溶液 (15 ml) にラウリン酸 (0.02 g) のDMF (15 ml) 溶液を添加し、1 {3-(ジメチルアミノ) プロピル} 3-エチルカルボジイミド塩酸塩 1.5 g を徐添加する。室温で1晩攪拌した後、反応液を水中で透析し、この水溶液に合成例1のホスホリルコリンアルデヒド 1 g を添加、5時間室温で攪拌する。水素化シアノホウ素酸ナトリウム 500 mg を添加し、一晩攪拌する。透析、凍結乾燥により精製し、目的物 1.1 g を得る。

構造式を図17に示す。

#### 【0038】

#### 合成例16 ヒアルロン酸-ポリリジンの合成

ヒアルロン酸 (1 g) とポリリジン (1 g) を蒸留水 15 ml に溶解し、室温

で5時間攪拌する。水素化シアノホウ素酸ナトリウム500mgを添加し、一晚攪拌する。透析、凍結乾燥により精製し、目的物1.85gを得る。

構造式を図18に示す。

【0039】

#### 合成例17 デキストラン-ポリアリルアミンの合成

デキストラン(1g)とポリアリルアミン(1g)を蒸留水15mlに溶解し、室温で5時間攪拌する。水素化シアノホウ素酸ナトリウム500mgを添加し、一晚攪拌する。透析、凍結乾燥により精製し、目的物1.6gを得る。

構造式を図19に示す。

【0040】

#### 合成例18 ヒドロキシエチルセルロース-ポリN-イソプロピルアクリルアミド-ポリN-(3-アミノプロピル)メタクリルアミドの合成

ヒドロキシエチルセルロース(1g)とヒドロキシエチルセルロース-ポリN-イソプロピルアクリルアミド-ポリN-(3-アミノプロピル)メタクリルアミド 1:1コポリマー(1g)を蒸留水15mlに溶解し、室温で5時間攪拌する。水素化シアノホウ素酸ナトリウム500mgを添加し、一晚攪拌する。透析、凍結乾燥により精製し、目的物1.5gを得る。

構造式を図20に示す。

【0041】

#### 合成例19 ヒアルロン酸-ホスホリルコリンポリリジンの合成

合成例1のホスホリルコリンアルデヒド1gを合成例17のヒアルロン酸-ポリリジン(1g)水溶液(15ml)に添加し、5時間室温で攪拌する。水素化シアノホウ素酸ナトリウム500mgを添加し、一晚攪拌する。透析、凍結乾燥により精製し、目的物1.0gを得る。

構造式を図21に示す。

【0042】

#### 合成例20 デキストラン-ホスホリルコリンポリアリルアミンの合成

合成例1のホスホリルコリンアルデヒド1gを合成例18のデキストラン-ポリアリルアミン(1g)水溶液(15ml)に添加し、5時間室温で攪拌する。

水素化シアノホウ素酸ナトリウム 500 mg を添加し、一晚攪拌する。透析、凍結乾燥により精製し、目的物 1.2 g を得る。

構造式を図 22 に示す。

#### 【0043】

合成例 21 ヒドロキシエチルセルロースーホスホリルコリンポリ N-イソプロピルアクリルアミドーポリ N-(3-アミノプロピル)メタクリルアミドの合成

合成例 1 のホスホリルコリンアルデヒド 1 g を合成例 19 のヒドロキシエチルセルロースーポリ N-イソプロピルアクリルアミドーポリ N-(3-アミノプロピル)メタクリルアミド (1 g) 水溶液 (15 ml) に添加し、5 時間室温で攪拌する。水素化シアノホウ素酸ナトリウム 500 mg を添加し、一晚攪拌する。透析、凍結乾燥により精製し、目的物 0.98 g を得る。

構造式を図 23 に示す。

#### 【0044】

次に、上記で合成した本発明の多糖類 (合成例 8~15) を用いて、下記手順にて、人の血液の溶血試験を行った。

##### 「溶血試験」

EDTA 5.5 mg を含む K3 溶液に人血液を入れ、4℃で 5 分間 200 G にて遠心分離する。得られた血液細胞をリン酸バッファー (PBS) で 3 回洗浄し、ポリマーの PBS 溶液と混合する。37℃にて 20 分間インキュベートした後、4℃で 5 分間 5300 G にて遠心分離する。上澄みの UV 吸収 (541 nm) より溶血の度合い (%) を評価する。

溶血の度合い (%) 下記の式にて求まる値 (%) である。

溶血の度合い (%) = { (ポリマー添加した血液の上澄み UV 吸収) - (ポリマー未添加上澄みの UV 吸収) } / { (完全に溶血した血液上澄み UV 吸収) - (ポリマー未添加上澄みの UV 吸収) } × 100

#### 【0045】

溶血試験結果の溶血の度合い (%) を「表 1」及び図 24 に示す。図 24 のグラフにおいて合成例 8~15 で製造したホスホリン基を導入したポリマーの溶血



の度合い(%)はいずれも横軸と重なる程ほぼ0%であり、溶血反応を示していない。したがって、本発明によりホスホリン基を導入した多糖類(ポリマー)はいずれも極めて高い血液適合性を有することが分かる。

【表1】

## 「溶血試験結果」

ポリマー 濃度(g/L)	合成例 8	合成例 9	合成例 10	合成例 11	合成例 12	合成例 13	合成例 14	合成例 15	アクリ ル酸
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0.1	0.01	0	0.01	0.01	0	0	0.02	0	10
0.25	0.02	0	0.01	0.01	0	0	0.03	0	15
0.5	0.03	0	0.05	0.01	0	0	0.035	0	35
1	0.02	0	0.1	0.03	0	0	0.04	0.1	50
2.5	0.02	0.05	0.1	0.03	0	0	0.04	0.1	100
5	0.025	0.1	0.1	0.04	0.11	0.16	0.05	0.15	100
10	0.05	0.1	0.1	0.05	0.4	0.11	0.07	0.2	100

【0046】

## 【発明の効果】

本発明のホスホリルコリン基含有多糖類は、生体適合性及び保湿性が高く、有用な高分子材料であり、人工臓器、生体膜、医療用具のコーティング剤、ドラッグデリバリー、化粧品配合成分等の様々な応用分野がある。

本発明の製造方法は、生体適合性高分子材料などとして具体的用途に最適なホスホリルコリン基含有重合体を自由に設計できるという大きな利点がある。

例えば、最初に、ホスホリルコリン基に影響されることなく、多糖類に疎水基を導入する等の設計を自由により用途に応じた最適な材料を得る。その後任意の量のホスホリルコリン基を付加させ、目的とする機能性高分子材料を容易に得ることが出来る。

## 【図面の簡単な説明】

## 【図1】

ホスホリルコリン基を含有する一官能のアルデヒド体を調製するスキームである。

## 【図2】

一般式(2)の多糖類の製造スキームである。

【図 3】

合成例 1 の構造式及び NMR スペクトルである。

【図 4】

合成例 2 の構造式である。

【図 5】

合成例 3 の構造式及び NMR スペクトルである。

【図 6】

合成例 4 の構造式及び NMR スペクトルである。

【図 7】

合成例 5 の構造式である。

【図 8】

合成例 6 の構造式である。

【図 9】

合成例 7 の構造式である。

【図 1 0】

合成例 8 の構造式及び NMR スペクトルである。

【図 1 1】

合成例 9 の構造式である。

【図 1 2】

合成例 1 0 の構造式及び NMR スペクトルである。

【図 1 3】

合成例 1 1 の構造式である。

【図 1 4】

合成例 1 2 の構造式である。

【図 1 5】

合成例 1 3 の構造式である。

【図 1 6】

合成例 1 4 の構造式である。

【図 1 7】

合成例 1 5 の構造式である。

【図 1 8】

合成例 1 6 の構造式である。

【図 1 9】

合成例 1 7 の構造式である。

【図 2 0】

合成例 1 8 の構造式である。

【図 2 1】

合成例 1 9 の構造式である。

【図 2 2】

合成例 2 0 の構造式である。

【図 2 3】

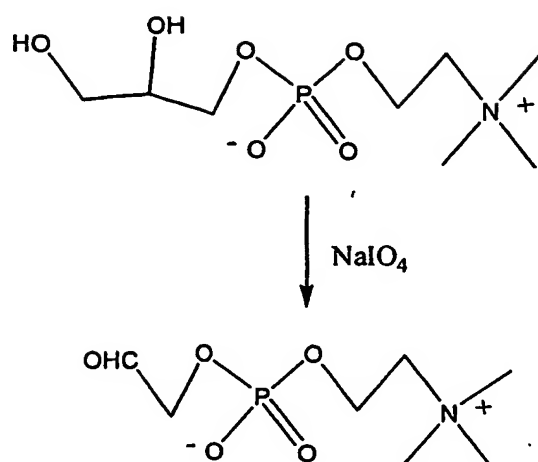
合成例 2 1 の構造式である。

【図 2 4】

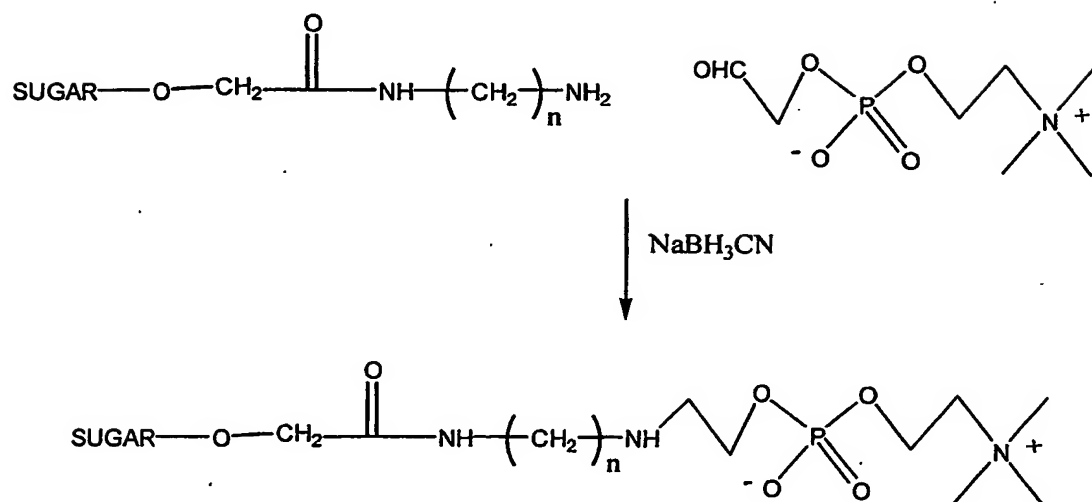
溶血試験結果を表わすグラフである。

【書類名】 図面

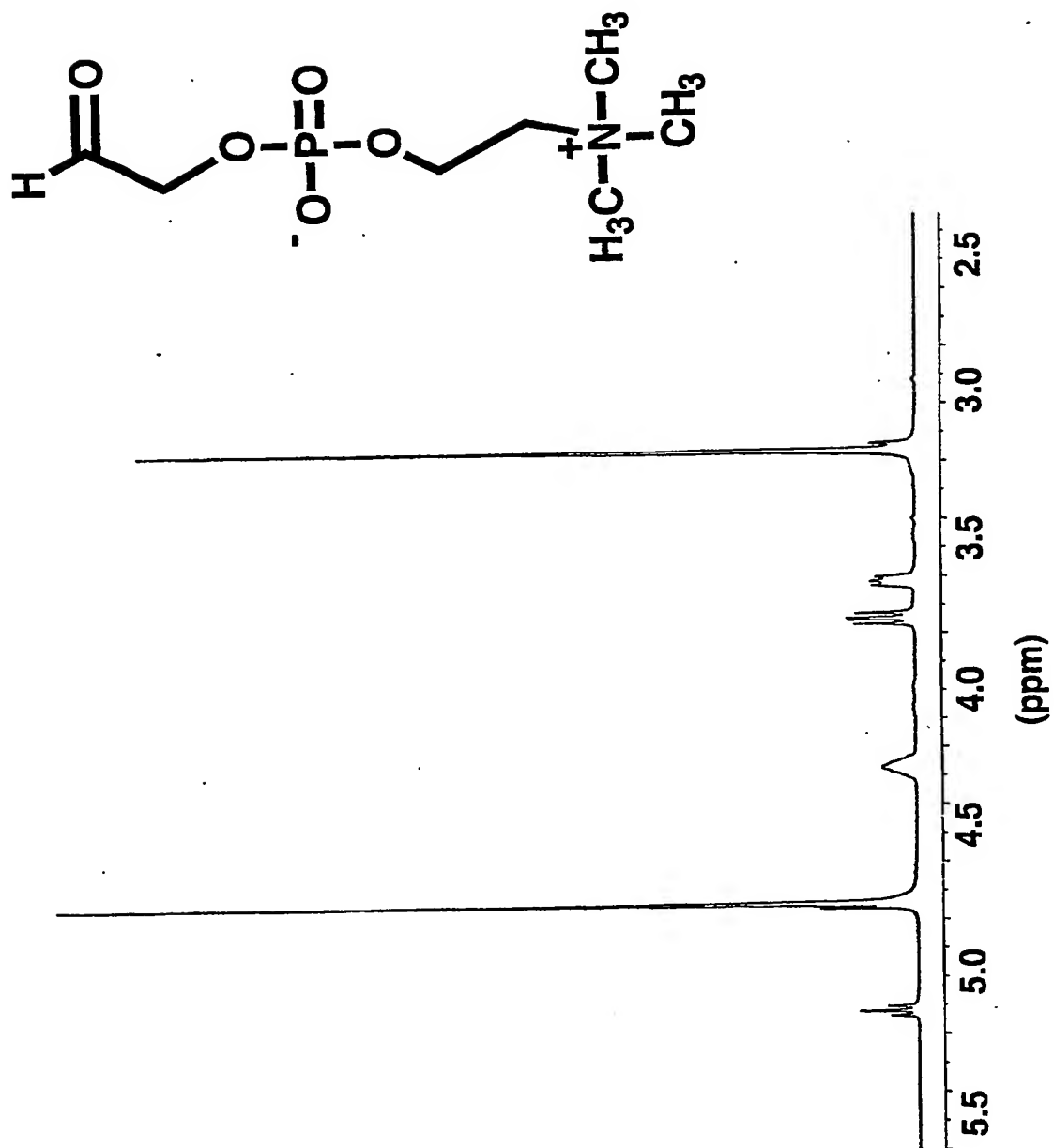
【図1】



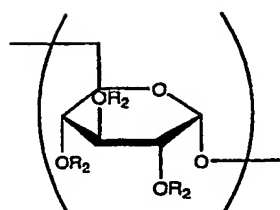
【図2】



【図 3】

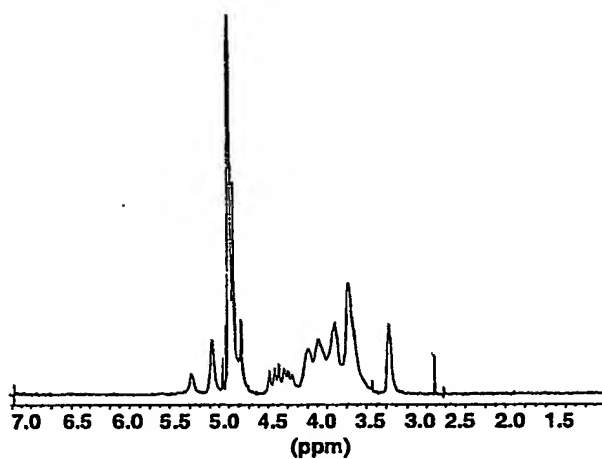
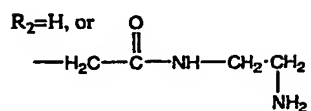
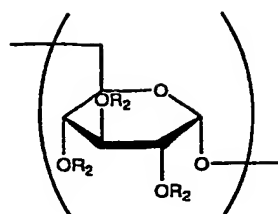


【図 4】

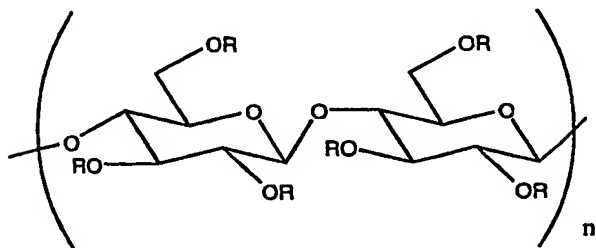


$\text{R}_2 = \text{H}$ , or  
 $-\text{H}_2\text{C}-\text{C}(=\text{O})-\text{OH}$

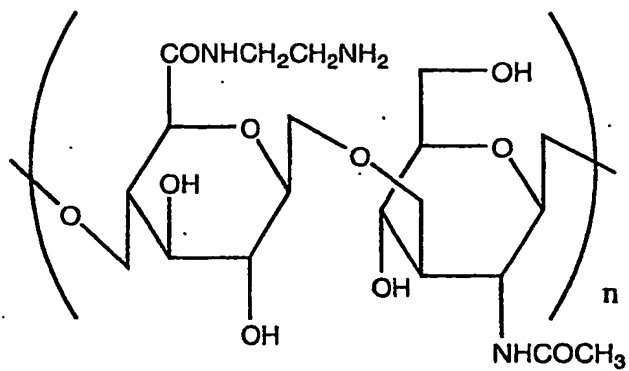
【図 5】



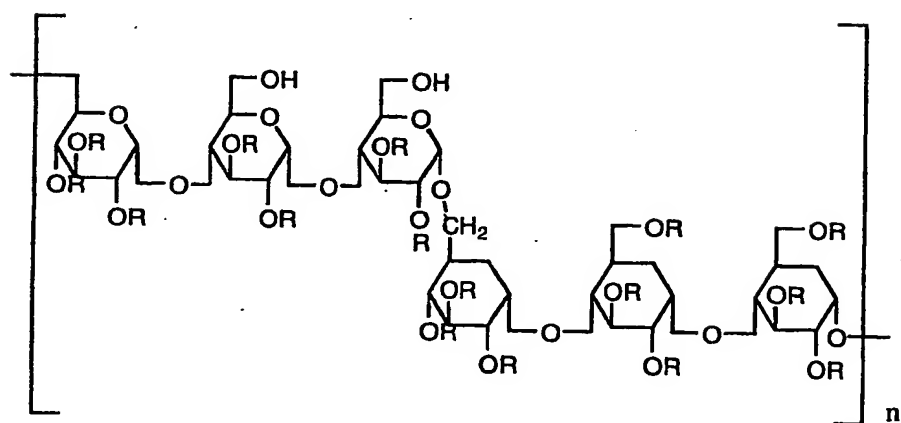
【図 6】



【図 7】

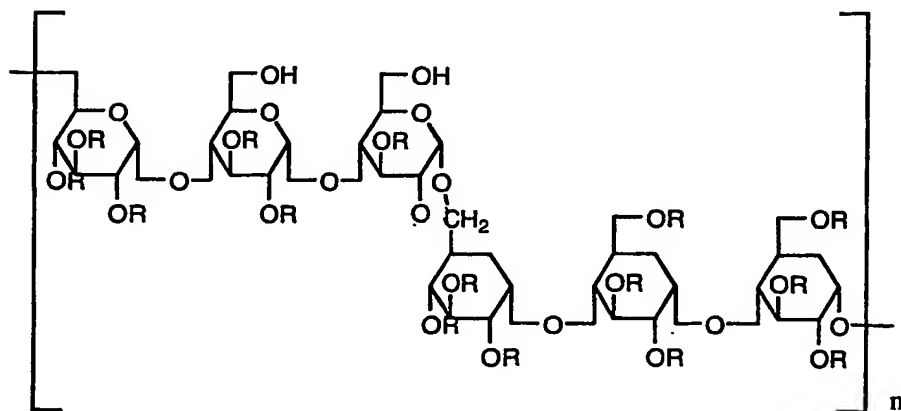


【図 8】



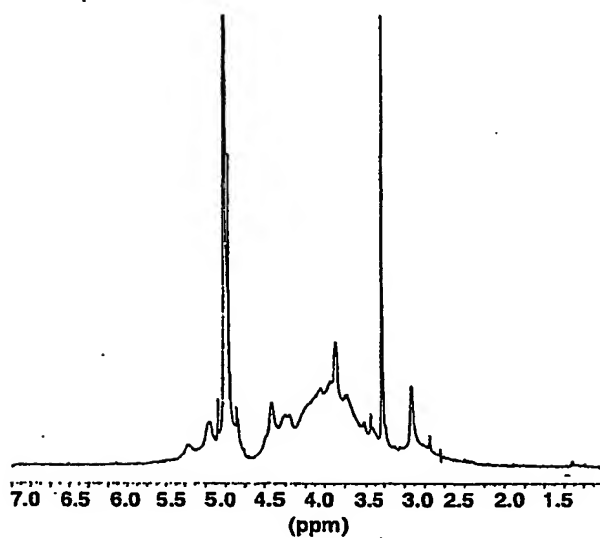
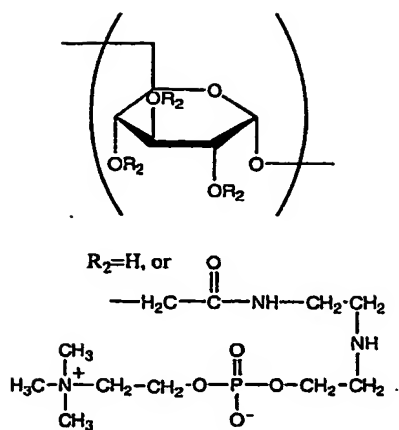
R=H or CH<sub>2</sub>COOH

【図 9】

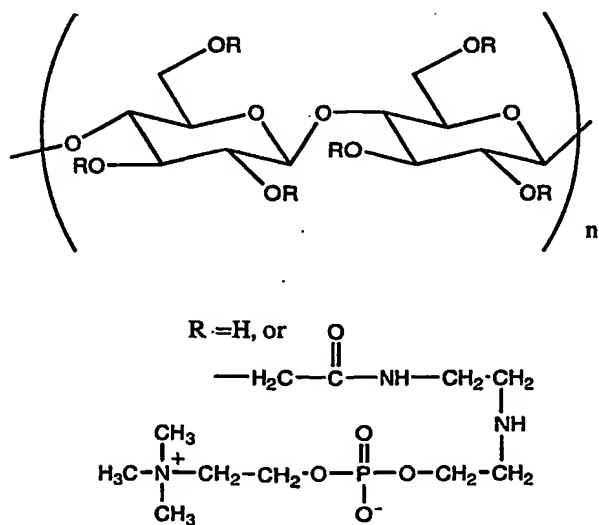


R=H or CH<sub>2</sub>CONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>

【図 10】

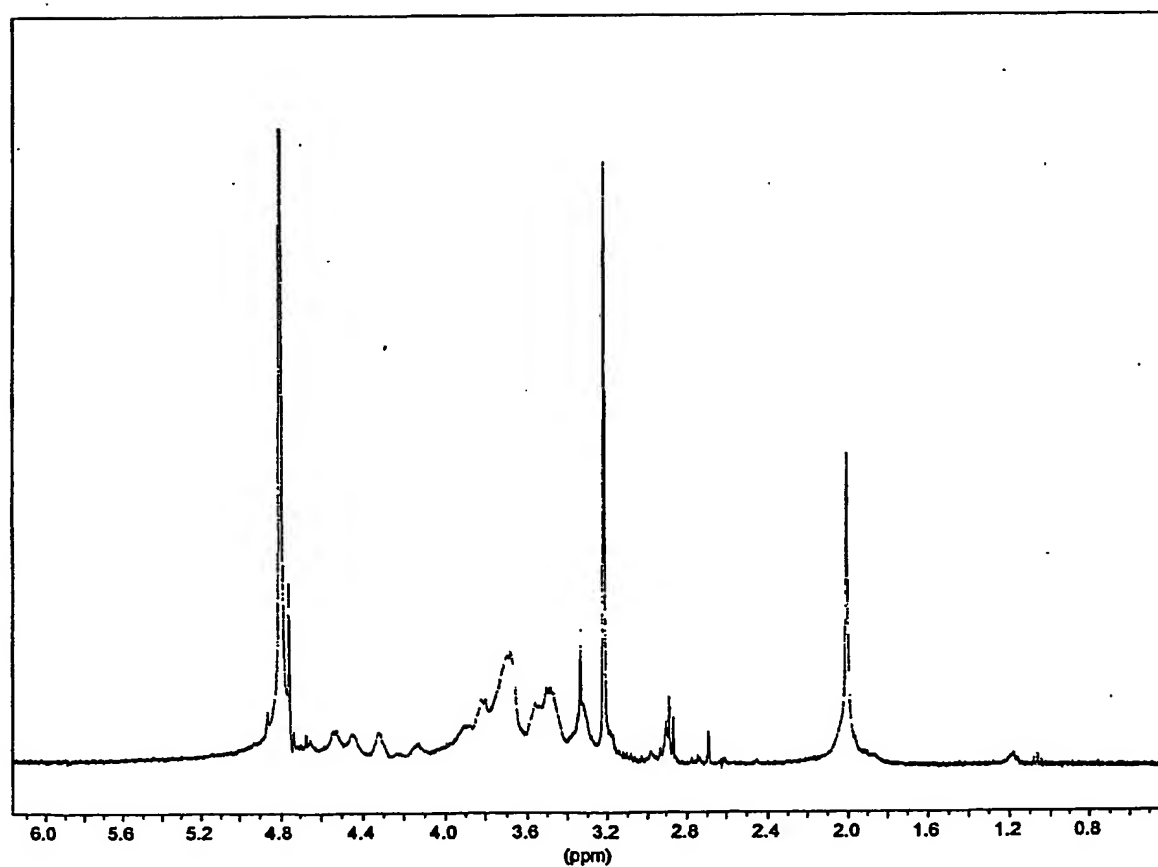
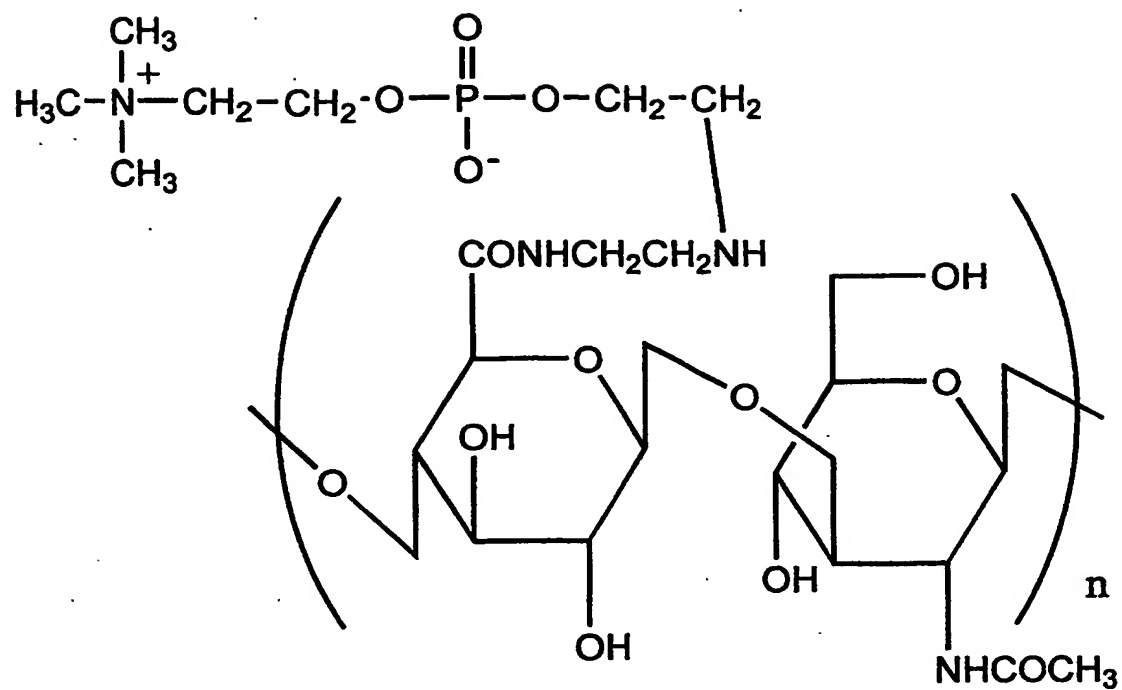


【図 11】

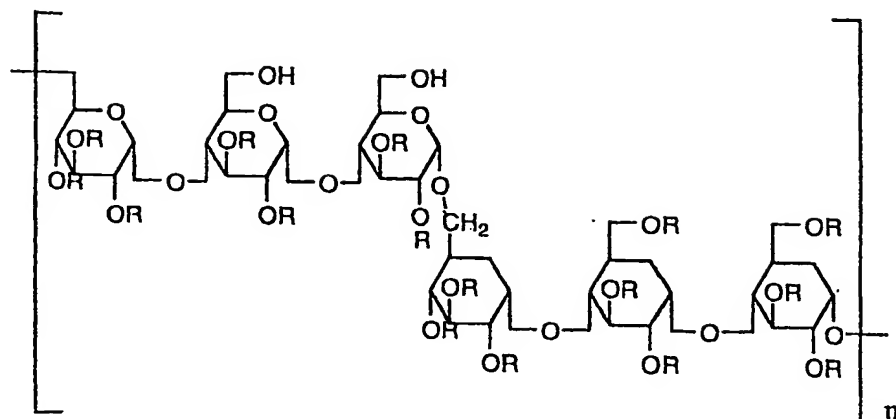




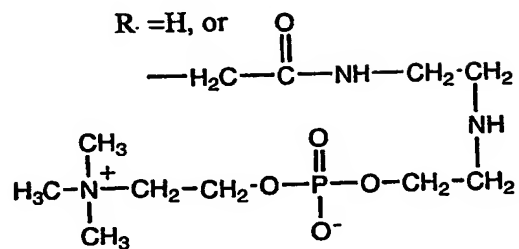
【図12】



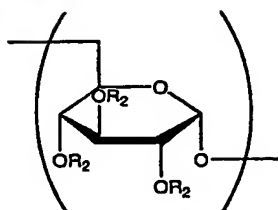
【図 13】



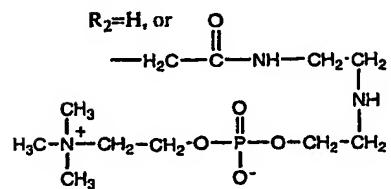
R = H, or



【図 14】

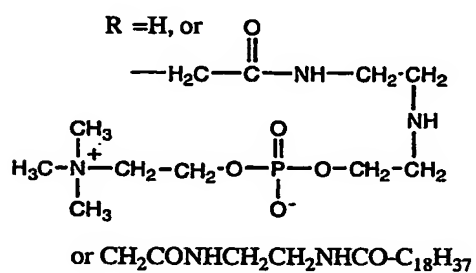
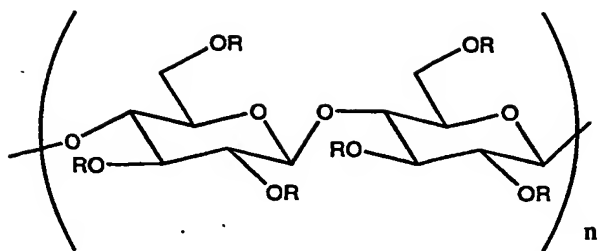


R<sub>2</sub> = H, or

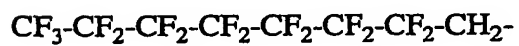
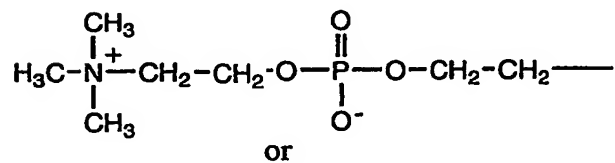
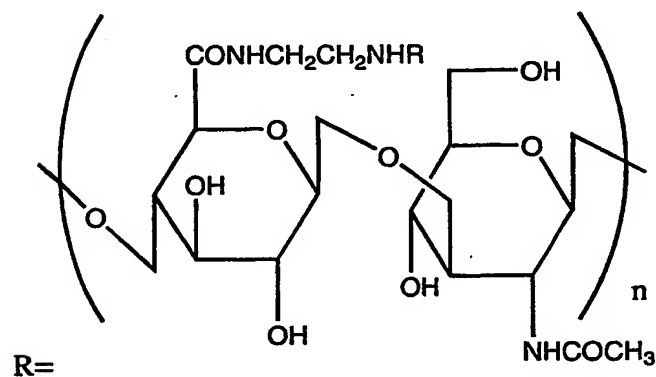


or CH<sub>2</sub>CONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NHCO-C<sub>12</sub>H<sub>25</sub>

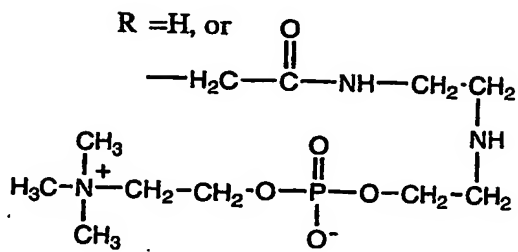
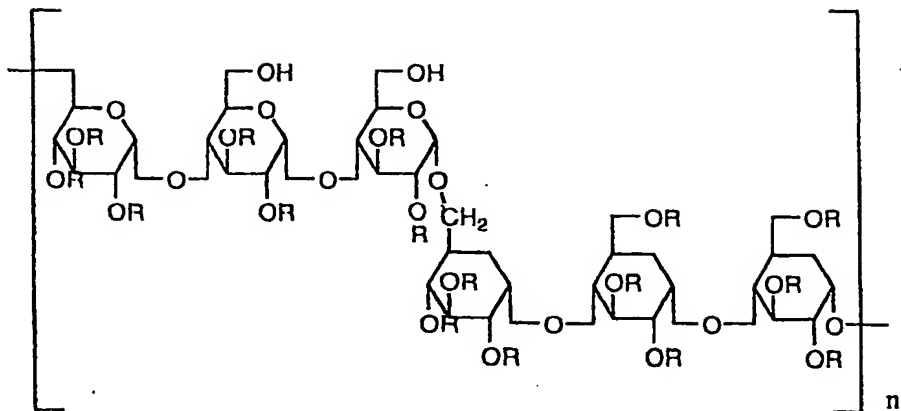
【図 15】



【図 16】



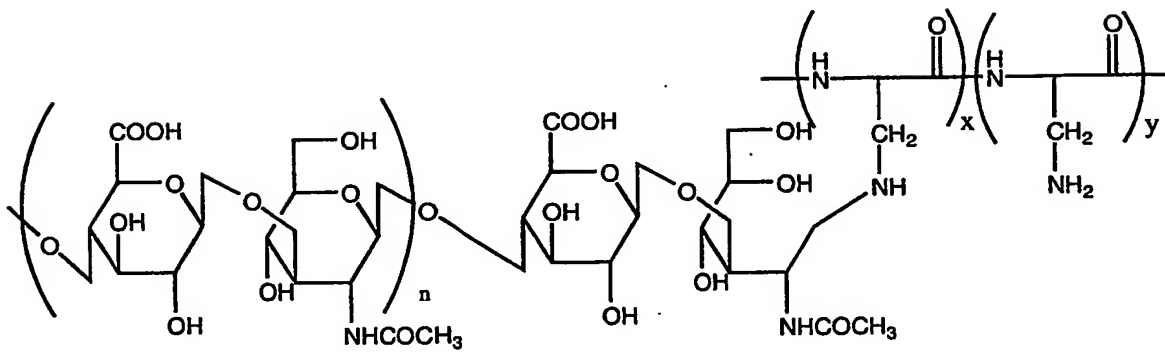
【図 17】



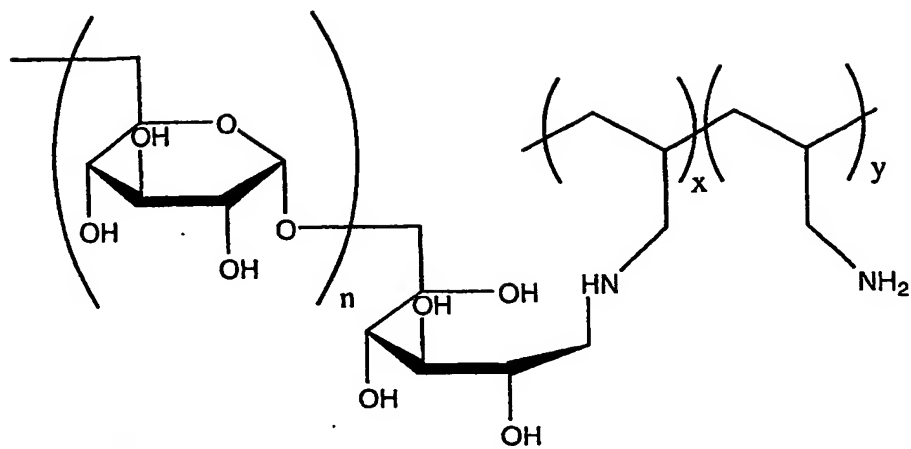
**or**



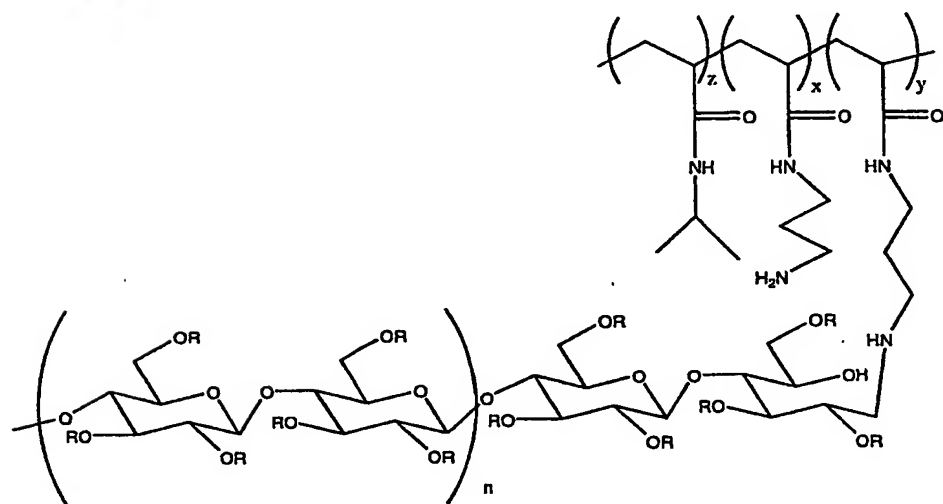
【図 18】



【図19】

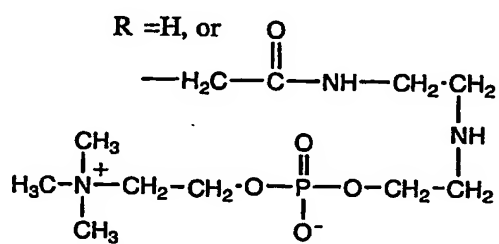
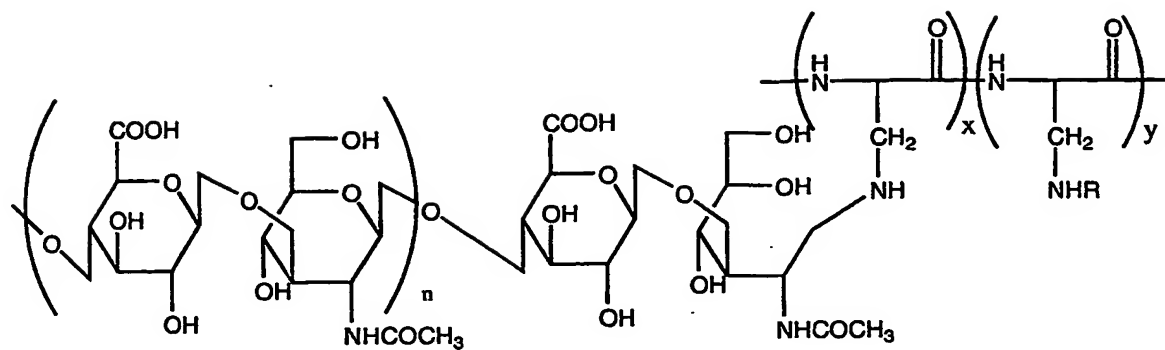


【図20】

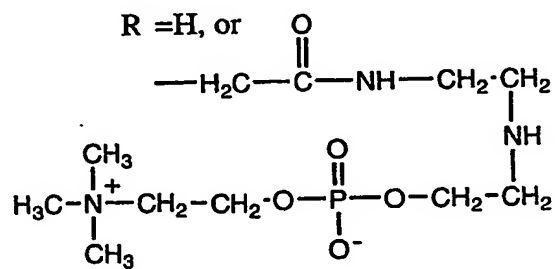
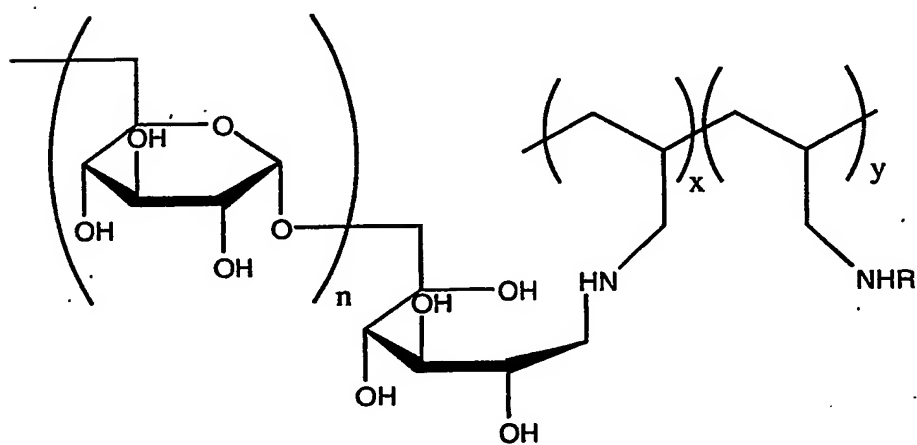


R=H or  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$

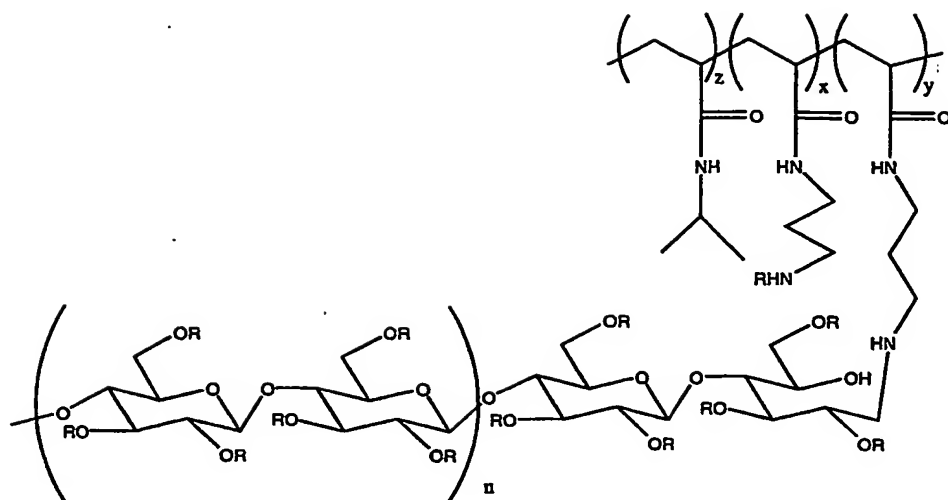
【図 2 1】



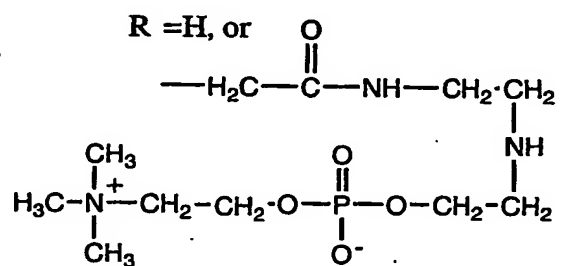
【図 2 2】



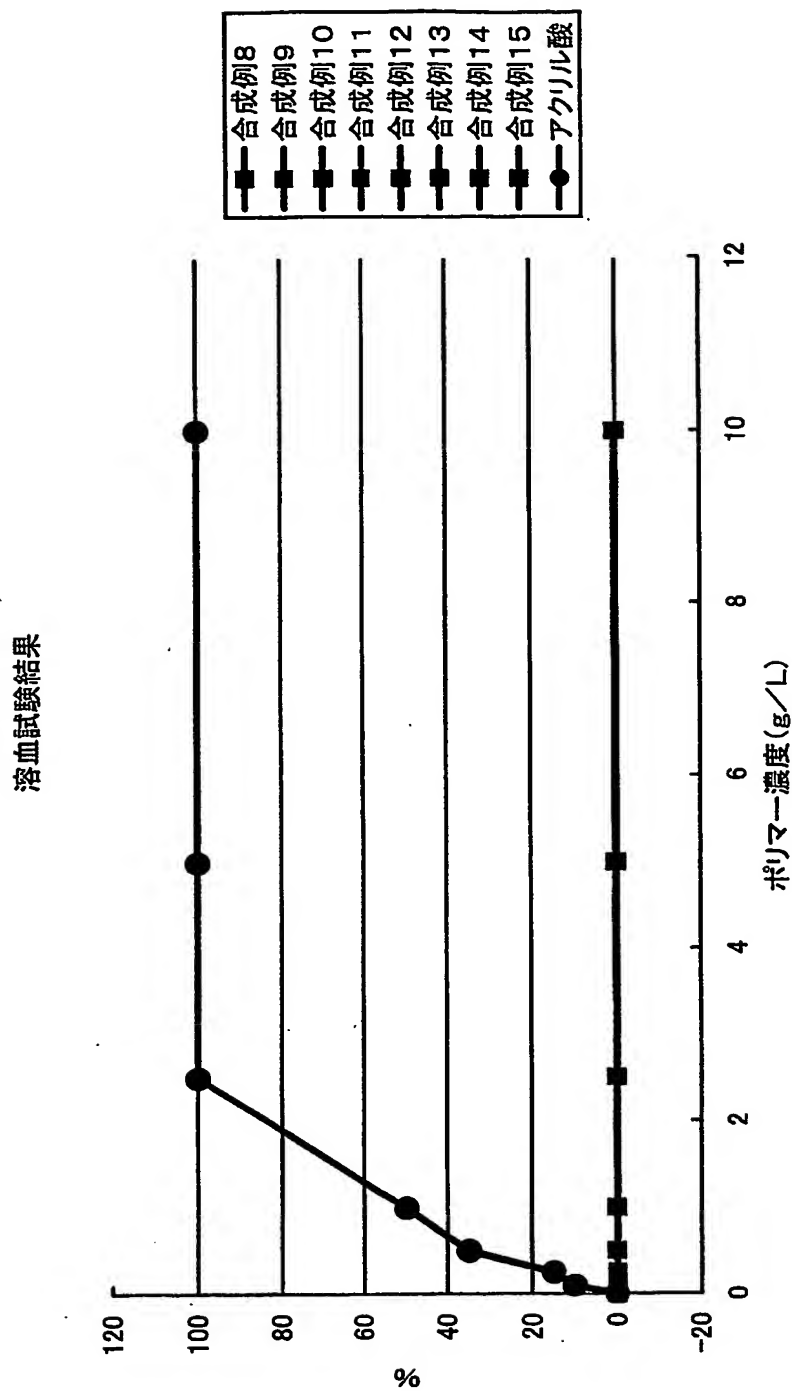
【図 23】



R=H or  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$



【図 24】





【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 生体適合性、保湿性に優れ、医用高分子材料として有用な、ホスホリルコリン基を有する新規な多糖類及びその簡便な製造方法を提供すること。

本発明の多糖類は、例えば、人口臓器、生体膜、医療用具のコーティング剤、ドラッグデリバリー、化粧品配合成分として利用される。

【解決手段】 グリセロホスホリルコリンの酸化的開裂反応により得られたアルデヒド体含有化合物を、アミノ基を含有する多糖類に付加することを特徴とするホスホリルコリン基含有多糖類の製造方法、及び本製造方法により得られるホスホリルコリン基を有する新規な多糖類である。

【選択図】 なし

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [000001959]

1. 変更年月日	1990年 8月27日
[変更理由]	新規登録
住 所	東京都中央区銀座7丁目5番5号
氏 名	株式会社資生堂

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**